2 月 February
2020, 63(2): 166 – 173

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2020.02.006

亚洲柑橘木虱成虫和 5 龄若虫在感染黄龙病的柑橘上的取食行为及获菌效率比较

乌天宇[1,2], 张旭颖[1], George A. C. BEATTIE[3], 岑伊静[1,*]

(1. 华南农业大学昆虫生态研究室/华南农业大学柑橘黄龙病研究室, 广州 510642; 2. 南方日报, 广州 510000; 3. School of Science and Health, Western Sydney University, Penrith, NSW 2751, Australia)

摘要:【目的】亚洲柑橘木虱 *Diaphorina citri* 是柑橘的毁灭性病害——黄龙病亚洲种‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’(‘*C*las’)的主要传播媒介。本研究的目的是明确木虱成虫和 5 龄若虫的取食行为、获菌效率是否有差异,以及寄主感染黄龙病是否对 5 龄若虫取食产生影响。【方法】利用直流型刺吸电位仪(DC-EPG Giga-4)记录柑橘木虱成虫和 5 龄若虫在携带黄龙病的酸橘 *Citrus reticulata* cv. Sunki 嫩梢上 10 h 的取食行为,用 qPCR 单头检测其获得黄龙病病原菌的效率,并比较 5 龄若虫在感病和健康植株嫩梢上的取食行为。【结果】柑橘木虱成虫与 5 龄若虫在感染黄龙病的酸橘上的取食行为有显著差异。5 龄若虫比成虫更快地开始在韧皮部和木质部进行吸食,口针在韧皮部的总过程以及吸食时间显著长于成虫。此外,5 龄若虫和成虫在 EPG 测定(同时饲菌)10 h 后获菌率分别为 37.5% 和 20.0%,若虫明显高于成虫。寄主植物感染黄龙病对 5 龄若虫的取食行为有一定的影响,表现在感病植株上的刺探次数、唾液分泌次数和韧皮部吸食次数都显著少于健康植株,而两者分泌唾液和韧皮部吸食时间没有显著差异。另外,在感病植株上首次韧皮部取食出现时间较在健康植株上要早。【结论】在同等时间下,柑橘木虱 5 龄若虫比成虫在感染黄龙病的酸橘上的取食能力更强、取食量更大、获菌率更高,原因可能是若虫需要更多的营养物质供其生长发育所致。寄主感染黄龙病对木虱 5 龄若虫的取食有利,使其更快地开始取食,而且更改取食位点次数变少,推测可能与黄龙病菌破坏了植物的防御有关。

关键词: 亚洲柑橘木虱; 柑橘; 黄龙病; 取食行为; 获菌效率; 刺吸电位

中图分类号: Q965.8 **文献标识码**: A **文章编号**: 0454-6296(2020)02-0166-08

Comparison of feeding behaviors and pathogen acquisition rates of adults and the 5th instar nymphs of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) on huanglongbing-infected citrus plants

WU Tian-Yu[1,2], ZHANG Xu-Ying[1], George A. C. BEATTIE[3], CEN Yi-Jing[1,*] (1. Laboratory of Insect Ecology/Citrus Huanglongbing Research Laboratory, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Nanfang Daily, Guangzhou, 510000, China; 3. School of Science, Western Sydney University, Penrith, NSW 2751, Australia)

Abstract:【Aim】The Asiatic citrus psyllid (ACP), *Diaphorina citri*, is the major vector of ‘*Candidatus* Liberibacter asiaticus’ (‘*C*Las’) (α-Proteobacteria), the pathogen that causes the Asiatic form of huanglongbing (HLB), the most devastating disease of citrus. The aims of this study are to determine whether the feeding behaviors of adults and the 5th instar nymphs of *D. citri* differ, and if so, whether these differences influence pathogen acquisition efficiency, and whether HLB-infected plants influence

基金项目: 广州市科技计划项目(201803050009); 国家重点研发计划项目(2018YFD0201500)
作者简介: 乌天宇, 男, 1990 年 1 月出生, 内蒙古赤峰人, 硕士, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 651674898@qq.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: cenyj@scau.edu.cn
收稿日期 Received: 2019-08-29; 接受日期 Accepted: 2019-11-15

feeding by the 5th instar nymphs.【Methods】The feeding behavior of adults and the 5th instar nymphs of *D. citri* on immature shoots of HLB-infected *Citrus reticulata* cv. Sunki was recorded for 10 h with DC-EPG giga-4. The acquisition efficiency of the pathogen by individual adults and nymphs from HLB-infected shoots was determined by qPCR. The feeding behaviors of the 5th instar nymphs on pathogen-free and HLB-infected shoots were also recorded and compared by EPG.【Results】The feeding behaviors of adults and the 5th instar nymphs of *D. citri* on *C. reticulata* cv. Sunki shoots infected with HLB differed significantly. The 5th instar nymphs started to ingest xylem and phloem sap sooner than adults. Durations of the phloem salivation and ingestion phases of nymphs were significantly longer than those of adults. When feeding on HLB-infected shoots, 37.5% of the 5th instar nymphs acquired '*C*Las' in contrast 20% of adults. The frequencies of probing and salivation and phloem sap ingestion by the 5th instar nymphs feeding on HLB-infected shoots were significantly lower than those on healthy shoots. However, HLB-infected plants did not influence the duration of phloem salivation and sap ingestion by the 5th instar nymphs. Feeding also commenced sooner in phloem of HLB-infected shoots than in phloem of healthy shoots.【Conclusion】The 5th instar nymphs of *D. citri* feed for longer intervals, ingest more phloem sap, and acquire higher titers of '*C*Las' than adults. This may be due to that nymphs require more nutrients for their growth and development than adults. They are therefore less inclined to withdraw their stylets from, and re-insert their stylets into '*C*Las'-infected leaf tissues. '*C*Las'-induced changes in host-plant phytochemistry promote feeding by the 5th instar nymphs of *D. citri*.

Key words: *Diaphorina citri*; *Citrus reticulata*; huanglongbing; feeding behavior; pathogen acquisition efficiency; electrical penetration graph

柑橘黄龙病(huanglongbing)是当前全球柑橘产业上最重要的传染性病害,有亚洲种、非洲种和美洲种,其病原菌分别为'*Candidatus* Liberibacter asiaticus'(*C*las)、'*Candidatus* Liberibacter africanus'(*C*Laf)和'*Candidatus* Liberibacter americanus'(*C*Lam),分布在亚洲、南北美洲、大洋洲和非洲近 50 个国家和地区,并且有不断蔓延的趋势(Bové, 2006; 江宏燕等, 2018)。黄龙病可以侵染几乎所有柑橘类植物,发病初期树冠上有少部分新梢叶片黄化,呈现明显的黄梢或斑驳黄化症状,随后病梢下段枝条和树冠其他部位的枝条陆续发病(Batool *et al.*, 2007; 吴定尧, 2010)。黄龙病造成植株寿命减短,果实产量锐减,果品质劣,严重时导致植株死亡,引起巨大的经济损失(Bové, 2006, 2014)。亚洲柑橘木虱 *Diaphorina citri* 属半翅目(Hemiptera)扁木虱科(Liviidae),我国原称为"柑橘木虱",是黄龙病最重要的媒介昆虫,因此研究其与黄龙病菌之间的互作关系对防止病菌传播十分重要。

刺吸电位(electrical penetration graph, EPG)技术是一种用来研究刺吸式口器害虫在寄主植物上刺探和取食行为的电生理技术,能够准确记录昆虫口针在植物组织中的刺探行为和位置,并将口针在植物组织内的取食活动转化为一种可见的电信号(Tjallingii, 1978, 1985; 姜永幸和郭予元, 1994)。Bonani 等(2010)和杨成良等(2011)最早利用 EPG 技术对柑橘木虱的取食行为开展研究,确定了取食波形与其行为之间的关系。柑橘木虱产生 8 种主要的取食波形,依次为非刺探波(np 波)、路径波(A, B 和 C 波)、D 波、韧皮部分泌唾液波(E1 波)、韧皮部被动吸食波(E2 波)以及木质部主动吸食波(G 波)(杨成良等, 2011)。寄主感染黄龙病显著影响木虱成虫的取食行为,而且随寄主发病程度的加深,成虫开始刺吸时间显著推迟,并会在韧皮部分泌更多的唾液(E1 时间延长)以及减少在韧皮部取食(E2 时间缩短)等(Cen *et al.*, 2012)。另外,对成虫在病树嫩叶、成熟叶和老叶上的取食比较研究发现,在嫩叶上出现 C 波(路径波)的时间显著长于在成熟叶和老叶上,而出现 E2 波(韧皮部吸食波)的时间明显比在成熟叶和老叶上短。此外,木虱在嫩叶上出现 E 波(韧皮部分泌唾液波 E1 波和 E2 波时间之和)和 G 波(木质部吸食波)的比例最低,说明在嫩叶上的适应性较差(Luo *et al.*, 2015)。Wu 等(2016)使用 EPG 记录了带菌柑橘木虱成虫在健康酸橘上取食 24 h 的传病过程,发现单头取食 24 h 后的传病成功率为 22.6%,成功传病个体的最短取食时间为 88.8 min,最短韧皮部分泌唾液(E1 波)时间

仅为 5.1 min。George 等(2017)用 EPG 比较了木虱成虫在嫩叶和成熟叶的叶面、叶背的取食行为,发现韧皮部吸食(E2 波)时间在成熟叶上显著短于在嫩叶上,在叶面显著短于在叶背,推测为韧皮部周围的纤维质厚壁组织可阻止成虫取食;随后,George 等(2018)又比较了木虱成虫以及 4 和 5 龄若虫取食行为的差异,发现若虫的取食量显著多于成虫,获菌率显著高于成虫。本实验利用 EPG 技术比较木虱成虫和 5 龄若虫在感染黄龙病寄主上的取食行为和获菌效率的差异,并研究了寄主感染黄龙病对 5 龄若虫取食行为的影响,进一步揭示木虱的取食行为与传病的关系,为通过干扰木虱取食而减少黄龙病传播提供依据。另外,也对病原、昆虫、寄主植物三者之间互作关系提供重要的生物学信息。

1 材料与方法

1.1 供试材料与仪器

1.1.1 供试植物:健康酸橘 *Citrus reticulata* cv. Sunki 来自广东省博罗县柑橘研究所,全部植株在 EPG 实验前均通过 qPCR 检测呈黄龙病阴性。移栽 1 个月后,长出嫩叶进行 EPG 实验。

黄龙病酸橘:将华南农业大学柑橘黄龙病研究室繁育的沙糖橘 *Citrus reticulata* cv. Shatangju 的病芽嫁接到健康酸橘上使其感染黄龙病,待酸橘显症后摘除病芽,并通过 qPCR 检测呈黄龙病阳性。

1.1.2 供试虫源:不携带黄龙病菌的柑橘木虱采自华南农业大学九里香植株上,转移到网室内盆栽健康酸橘树上繁育多代,经抽样检测确定不携带黄龙病菌,选择成虫和 5 龄若虫进行实验。

1.1.3 仪器与试剂:EPG 信号放大器(荷兰 Wageningen 大学昆虫实验室研制的 Giga_4 直流型),附带银胶、铜钉、铜丝、金丝、数字转换器(DI_720, DATAQ Instruments)和分析软件 Stylet v01.20_111011;法拉第笼,使用铝合金与铁砂网制作,长×宽×高 = 120 cm × 40 cm × 80 cm;实时荧光 PCR 仪 TP800(TaKaRa, Osaka, 日本)。

无水乙醇(99.5% 分析纯)(天津市富宇精细化工有限公司);TIANGEN 血液组织 DNA 提取试剂盒(广州维宁生物科技有限公司);OMEGA 植物 DNA 提取试剂盒(广州飞扬生物工程有限公司);qPCR 引物(英竣生物工程公司合成);Bioscience qPCR MasterMix (SYBR Green)(广州莱德尔医疗仪器科技有限公司)。

1.2 柑橘木虱刺吸电位测定

测试柑橘木虱成虫和 5 龄若虫在感染黄龙病酸橘植株和健康植株上取食的刺吸电位,每天上午 9 点开始记录,记录时间为 10 h,成虫和若虫分别重复测试 40 头。刺吸电位测定在室温下进行,昆虫与电极连接方法参照汤清波等(2011),正式实验之前将木虱进行 2 h 饥饿处理,然后用导电性银胶将金丝粘到木虱胸部背面中央,粘连好后,静置片刻以保证木虱可以正常活动和取食。由于木虱偏好在柑橘叶片背面中脉取食,故将叶片翻转并固定,之后将昆虫电极连入 EPG 设备,植物电极则插在土壤中,整个装置置于法拉第笼中以屏蔽外界电磁波的干扰,待木虱适应、稳定后启动电脑记录软件。

1.3 柑橘木虱 DNA 的提取

使用 TIANamp Genomic DNA Kit 试剂盒单头提取柑橘木虱成虫或若虫的 DNA,步骤参考其说明书。获得的 DNA 样本使用紫外分光光度计检测其浓度,将提取的 DNA 放入 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.4 植物组织 DNA 提取

采用 OMEGA 公司 E. Z. N. A.™ 植物试剂盒提取,步骤参考其说明书,获得的 DNA 样本使用紫外分光光度计检测其浓度,将提取的 DNA 放入 -20℃ 冰箱中保存备用。

1.5 柑橘木虱获菌效率的 qPCR 检测

EPG 实验结束后,将每头柑橘木虱单独放置在装有 75% 酒精的 0.5 mL 离心管中保存用于 qPCR 检测,得到获菌效率。实时荧光 PCR 的引物设计参考 Li 等(2006)文献报道设计的 HLB asf/HLB asr 引物对。使用 Bioscience qPCR MasterMix(SYBR Green 染料法)对柑橘木虱体内的柑橘黄龙病菌 16S rDNA 片段进行 qPCR 扩增,以确定柑橘木虱体内携带病菌的情况。按说明书条件配好反应体系,并设置反应条件,之后放入 Rotor-Gene RG-3000 孔反应板上,打开配套运行软件 Rotor-Gene 6,反应结束后,保存文件用于确定其对应的柑橘木虱或植物是否带菌。

1.6 数据分析

EPG 波形判断方法参考 Bonani 等(2010)和杨成良等(2011)对亚洲柑橘木虱 EPG 行为波形定义。本研究重点比较以下 4 种波形:

(1) C 波:表示木虱在寻找取食位点,其口针在表皮与维管束的细胞间隙中穿刺;

(2) G 波:表示木虱在木质部主动吸食,口针位于胞外木质部内;

(3) E1 波:表示木虱在向韧皮部筛管分泌水溶

性唾液；

(4) E2 波：表示木虱在韧皮部被动吸食。

使用 PROBE 3.4 软件（荷兰瓦赫宁根大学）记录 EPG 实验波形，并按选取的参数对记录的波形进行分析。将得到的数据用 SPSS 11.0 for Windows 软件进行统计分析，使用独立样本 t 检验（independent samples t-test）方法分析不同实验组木虱波形数据。

2 结果

2.1 柑橘木虱成虫与 5 龄若虫在感染黄龙病的酸橘上 EPG 特征参数比较

实验分别得到柑橘木虱成虫 35 头、5 龄若虫 32 头有效重复的数据。成虫与 5 龄若虫都在 2 h 内第 1 次对感染黄龙病的酸橘叶片刺探（第 1 次刺探时间），在随后的 1 h 左右时间寻找到韧皮部筛管分泌唾液（第 1 次韧皮部分泌唾液时间），且分泌唾液时间（韧皮部分泌唾液总时间）相对很短，并开始持续取食韧皮部营养成分（第 1 次韧皮部被动取食）；另外，成虫与若虫在病树叶片上不取食的平均总时间（非刺探总时间）分别为 315.5 和 188.5 min，而木虱口针进入叶片表皮组织在薄壁组织穿刺寻找取食位点过程（路径波 C 总时间）分别需要 182.7 和 138.9 min，但两组数据差异都没有达到显著水平（$P > 0.05$）（图 1：A，B）。结果表明成虫与 5 龄若虫在寻找到病叶取食位点的过程没有显著差异。

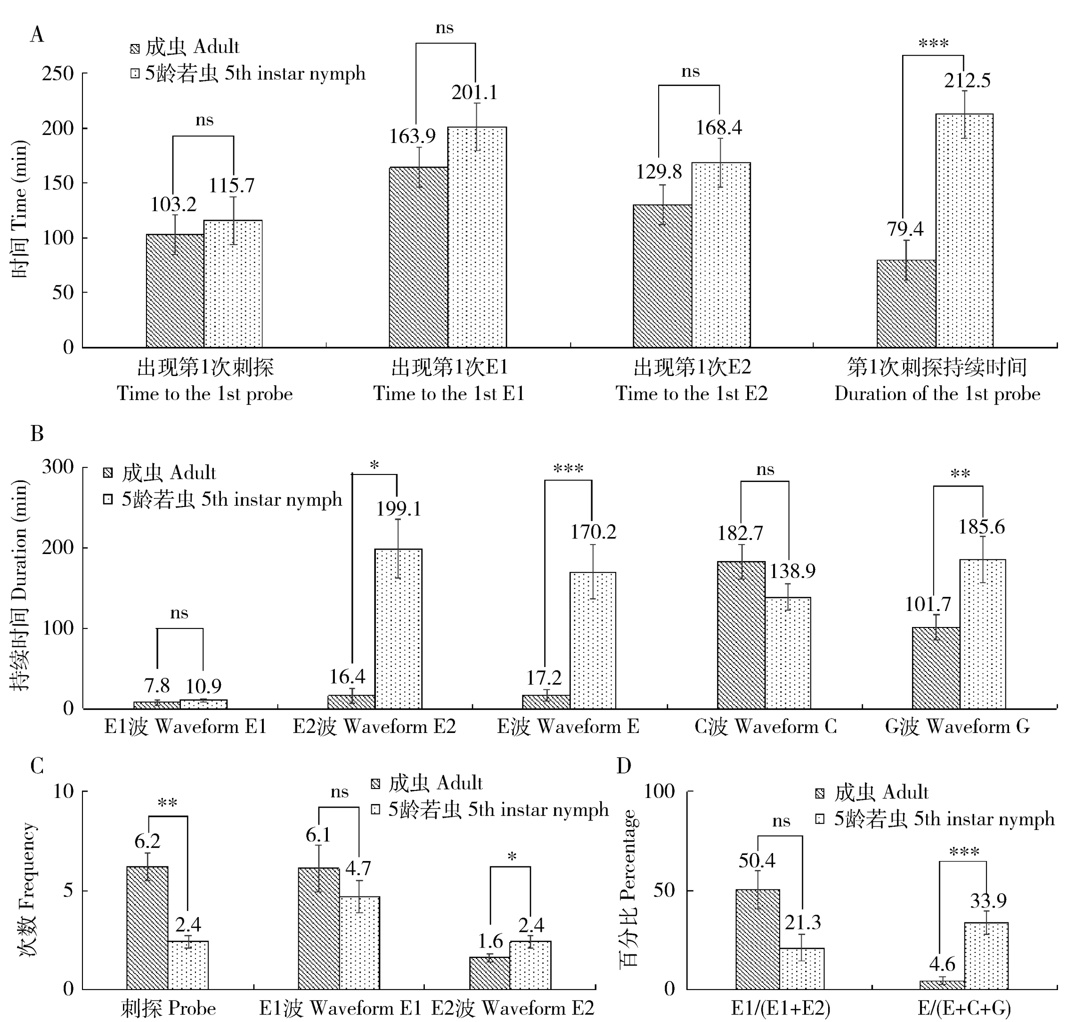


图 1　柑橘木虱成虫和 5 龄若虫在感染黄龙病的酸橘上取食 EPG 特征参数比较

Fig. 1　Comparison of the EPG characteristic parameters between adults and the 5th instar nymphs of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* feeding on *Citrus reticulata* cv. Sunki infected with huanglongbing

E1 波 Waveform E1：韧皮部分泌唾液 Phloem salivation；E2 波 Waveform E2：韧皮部被动吸食 Phloem ingestion；E 波 Waveform E：韧皮部阶段 Phloem phase (E1 + E2)；C 波 Waveform C：路径波 Pathway phase；G 波 Waveform G：木质部主动吸食 Xylem ingestion；E1/(E1 + E2)：韧皮部分泌唾液时间 Duration of phloem salivation/韧皮部阶段时间 Duration of phloem phase；E/(E + C + G)：韧皮部阶段时间 Duration of phloem phase/(韧皮部阶段时间 Duration of phloem phase + 路径波时间 Duration of pathway phase + 木质部主动吸食时间 Duration of xylem ingestion). 图中相同类型数据差异显著性均运用独立样本 t 检验进行检验。The significance of difference between data within the same series was tested by the independent samples t-test. $^{ns}P > 0.05$；$^{*}P < 0.05$；$^{**}P < 0.01$；$^{***}P < 0.001$. 图 2 同 The same for Fig. 2.

但是,5 龄若虫比成虫在病树第 1 次刺探持续时间要长(图 1: A),两者分别为 212.5 与 79.4 min;韧皮部吸食时间(E2)要更久(图 1: B),分别为 199.1 和 16.4 min;木质部吸食时间(G 波总时间)也要更长(图 1: B),分别为 185.6 和 101.7 min。这两组数据差异都极为显著($P < 0.01$),说明若虫吸收营养物质的时间显著长于成虫。

另外,5 龄若虫比成虫在病树刺探次数显著减少($P = 0.002$),若虫在 10 h 内刺探 2.4 次,而成虫刺探了 6.2 次。虽然 5 龄若虫韧皮部吸食(E2 波)次数多于成虫,但这两者之间的韧皮部分泌唾液(E1 波)次数差异未达显著水平($P > 0.05$)(图 1: C)。成虫分泌唾液时间占韧皮部总刺吸时间的比例[E1/(E1 + E2)]要稍多些,但两者之间并未达到显著差异水平($P > 0.05$);但 5 龄若虫韧皮部总刺吸时间占总刺吸时间比例[E/(E + C + G)]显著高于成虫($P < 0.05$),这说明在同等时间内若虫对韧皮部取食的需求量比成虫要更大(图 1: D)。

2.2 柑橘木虱成虫与 5 龄若虫在感染黄龙病的酸橘上吸食后获菌效率比较

经 qPCR 检测,5 龄若虫在感染黄龙病的酸橘嫩梢上取食 10 h 后有 37.5% (12 头)携带病菌,成虫有 20.0% (7 头)携带病菌,若虫获菌率高于成虫。

2.3 寄主植物感染黄龙病对柑橘木虱 5 龄若虫取食行为的影响

实验共获得 30 头 5 龄若虫在健康酸橘上取食的波形,与 30 头在感染黄龙病的酸橘上取食的波形进行比较,从图 2(A)可以看出,5 龄若虫在感病植株嫩梢上的第一次韧皮部取食时间要显著早于在健康植株上($P < 0.05$),而且刺探次数、分泌唾液次数与韧皮部取食次数都要显著少于在健康植株上取食($P < 0.05$)(图 2: C),而在分泌唾液总时间与韧皮部取食总时间上两者没有显著差异($P > 0.05$)(图 2: B),其他波形参数也没有显著差异($P > 0.05$)(图 2: A, B, D),说明寄主感染黄龙病使木虱 5 龄若虫更快地开始取食,而且更改取食位点次数变少、持续吸食时间变长,即对若虫的取食是有利的。

3 讨论

3.1 柑橘木虱成虫与 5 龄若虫在健康与感染黄龙病的酸橘上的取食行为及其获菌效率的差异

本研究结果表明,在相同实验时间内,5 龄若虫在酸橘韧皮部和木质部取食的时间长于成虫,而分泌唾液的时间差异不显著;另外,5 龄若虫在薄壁组织中的刺探次数比成虫少,但韧皮部取食次数比成虫要多(图 1),说明在感染黄龙病的寄主上若虫的取食量比成虫大,该结果与 George 等(2018)的结果一致。一般来说,昆虫的未成熟虫态由于生长发育的需要,取食量要大于成虫,我们在饲养柑橘木虱的过程中发现成虫很少分泌蜜露,但若虫则会在短时间内分泌大量的蜜露,在嫩叶处取食的若虫会使受害嫩叶无法正常展开,造成畸形甚至枯萎掉落,而成虫则不会造成如此严重的影响。这些现象也说明柑橘木虱若虫的取食量大于成虫。与柑橘木虱不同的是,褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的取食量(蜜露分泌量)会随着龄期而增大,且成虫取食量要大于若虫(顾秀慧等, 1987)。

另外,本研究发现 5 龄若虫和成虫在感染黄龙病的酸橘上取食 10 h 后的获菌率分别为 37.5% 和 20.0%,若虫明显高于成虫。George 等(2018)报道,柑橘木虱成虫和若虫在带病植物上饲养 42 h 后,检测到 58% 的若虫和 6% 的成虫携带黄龙病菌,即若虫的获菌率接近成虫的 10 倍。Pelz-Stelinski 等(2010)在实验室条件下比较了木虱成虫和若虫在黄龙病病树上取食 5 周后的获菌率,发现若虫的获菌率为 60% ~100%,而成虫的获菌率仅达 40%。尽管获菌率有差异,但本研究与上述两个研究的结果都证明若虫的获菌率明显高于成虫。Inoue 等(2009)报道,在成虫期获菌的柑橘木虱不能传播黄龙病,在若虫期获菌则传病效率很高,达 66.7%。本研究结果显示,同等时间内若虫的取食量较大,这种取食行为的差异可以解释造成两者获菌、传病效率差异的原因。

3.2 寄主感染黄龙病对柑橘木虱若虫取食行为的影响

本研究发现,寄主感染黄龙病对柑橘木虱 5 龄若虫的取食是有利的(图 2)。而 Cen 等(2012)的研究发现,寄主感染黄龙病增加了柑橘木虱成虫取食的障碍,表现在口针到达韧皮部的时间显著延迟,分泌唾液的次数显著增加、时间显著延长、分泌唾液后不吸食的次数更多,而吸食的时间显著缩短,而且这种差异随寄主发病程度的增加而增加。可见寄主感染黄龙病对木虱成虫和若虫取食的影响并不一致,对成虫的取食不利而且影响较大,造成两者差异的原因很可能与两次测定使用的寄主叶片成熟度有关,成虫实验使用的是病苗的成熟叶(Cen *et al.*, 2012),而由于若虫仅取食嫩梢,所以本实验是在嫩

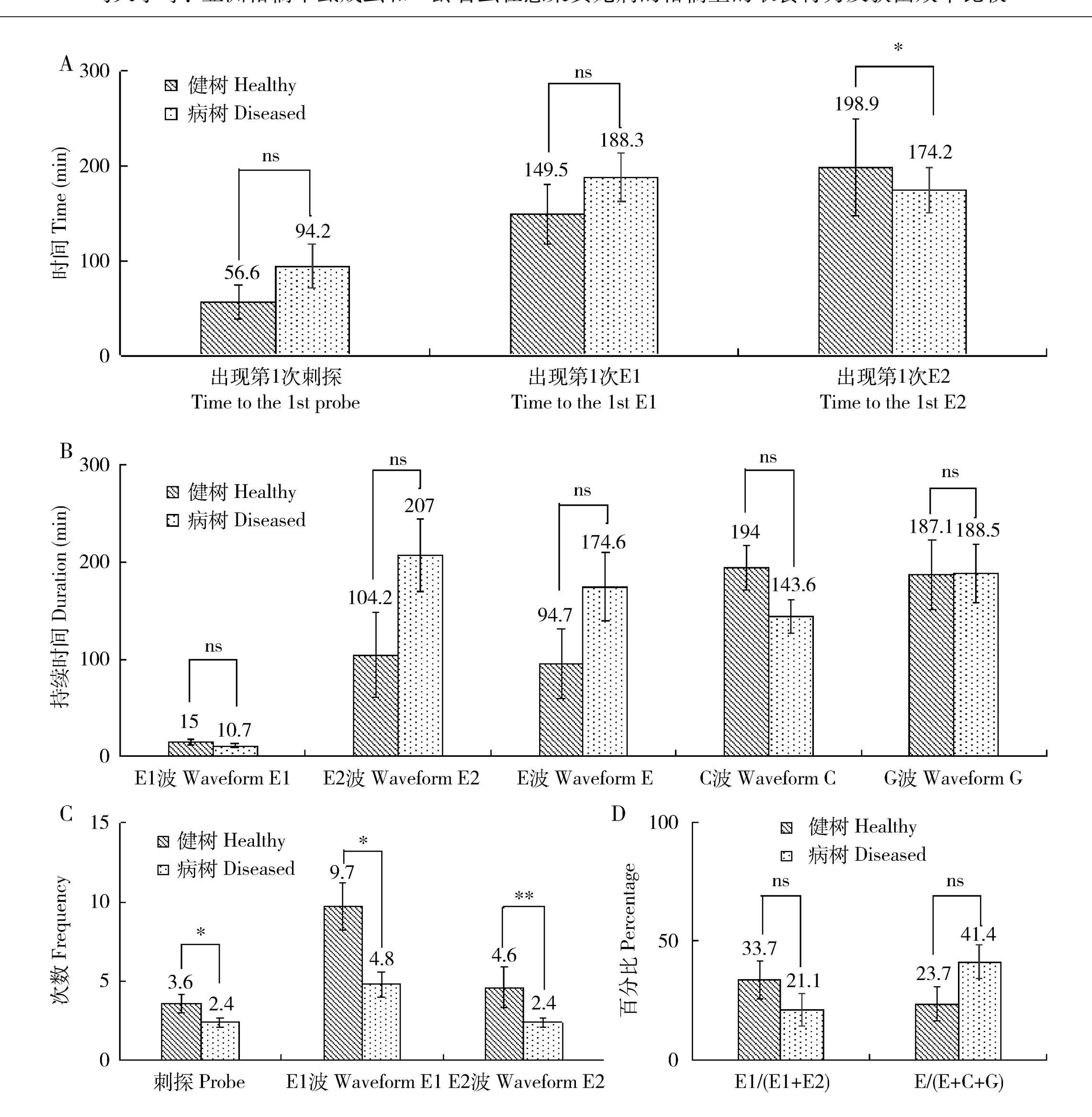


图 2　柑橘木虱 5 龄若虫在健康与感染黄龙病的酸橘上取食的 EPG 特征波形参数比较

Fig. 2　Comparison of the EPG characteristic parameters of the 5th instar nymphs of the Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* feeding on healthy and huanglongbing-infected *Citrus reticulata* cv. Sunki

梢上进行测定。Kunta 等(2014)和黄金萍等(2015)的实验结果都表明成熟叶片比嫩芽或嫩叶中的黄龙病病原菌浓度高;Luo 等(2015)的研究也说明不带菌木虱成虫在病树成熟叶取食的获菌率高于嫩叶,这可能是导致黄龙病感染寄主植物对成虫和若虫取食行为影响相反的原因之一。

钦俊德(1987)认为,阻碍昆虫取食植物最重要的是植物化学成分,其次是形态与结构。黄龙病的侵染会对植物造成不同程度的影响。Kim 等(2009)研究认为,黄龙病叶片光合作用会因为韧皮部病变,产生的有机物质无法转运出去,从而引起淀粉粒积累阻塞栅栏细胞与薄壁组织。钟云等(2012)通过 SSH 文库建立分析发现,在黄龙病诱导下椪柑涉及抗逆防御、运输、能量代谢、光合作用等代谢途径和生理生化过程的基因表达发生变化。研究表明,体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)是寄主植物与刺吸式昆虫互作的信号分子,而生物胁迫的一个早期反应便是 ROS 水平提高(Maffei *et al.*, 2007),但调控防御反应的能力或者调节酶活性的能力在抗性和敏感植株内又是不同的(张海静等, 2012)。推测在本实验中,由于柑橘树病变而减弱了叶片对昆虫的某些防御机制,使得 5 龄若虫能够在病树固定位置取食,减少重新选择取食位点的次数,而由于病树嫩叶中的韧皮部阻塞还未达到影响木虱取食的阈值,所以病树的嫩叶结构并没有对 5 龄若虫造成取食障碍,也没有影响其对营养物质的吸收量。这个结果与 Alvarez 等(2007)对在健康和感染马铃薯卷叶病毒(potato leafroll virus, PLRV)

的马铃薯上取食的桃蚜 *Myzus persicae* 研究结果相似:在被 PLRV 感染的马铃薯叶片上取食的桃蚜,其刺探次数、F 波(机械障碍波)次数和持续时间、第 1 次刺探至首个 E 波出现之间的时间都明显减少,但并未明显改变韧皮部取食的时间,作者认为在被感染的植株上,蚜虫的口针在叶片组织内移动的束缚力减弱,很可能是因为病毒的感染减弱了植物对蚜虫的抗性能力。关于病原菌、寄主植物和媒介昆虫三者之间的互作关系,尤其是病原菌对昆虫取食方面的影响都不仅仅是单方面作用引起,会受到多种内在与外在条件的影响(Cen *et al*., 2012; Wang *et al*., 2012; Palukaitis *et al*., 2013; Rajabaskar *et al*., 2014),深入的机理有待进一步研究验证。未来互作关系的研究可以从木虱带菌后基因表达水平入手,对取食有关的基因表达变化进行深入研究,从而获知木虱传播黄龙病更深层的机理。

柑橘木虱具有获菌速度快、传病效率高的特点(Luo *et al*., 2015; Wu *et al*., 2016);而且据报道,寄主植物感染黄龙病后对柑橘木虱成虫的吸引作用增强,而由于寄主染病增加了对木虱成虫的取食障碍,导致成虫转移到健康的寄主(Cen *et al*., 2012; Wu *et al*., 2015)。本研究结果说明若虫是最重要的获菌阶段,而且寄主感染黄龙病对若虫的取食有利。黄龙病-柑橘-柑橘木虱的上述关系非常有利于黄龙病的传播。因此,在生产上对柑橘木虱应该采取零容忍的策略,通过隔离种植、栽培措施、保护天敌、冬季清园、喷药保梢等途径预防木虱的发生,橘园一旦发现木虱马上喷药补救,这对阻止黄龙病的传播蔓延至关重要。

参考文献(References)

Alvarez AE, Garzo E, Verbeek M, Vosman B, Dicke M, Tjallingii WF, 2007. Infection of potato plants with potato leafroll virus changes attraction and feeding behaviour of *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl*., 125(2): 135–144.

Batool A, Iftikhar Y, Mughal SM, Khan MM, Jaskani MJ, Abbas M, Khan IA, 2007. Citrus greening disease – a major cause of citrus decline in the world – a review. *Hortic. Sci*., 34(4): 159–166.

Bonani JP, Fereres A, Garzo E, Miranda MP, Appezzato-Da-Gloria B, Lopes JRS, 2010. Characterization of electrical penetration graphs of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, in sweet orange seedlings. *Entomol. Exp. Appl*., 134(1): 35–49.

Bové JM, 2006. Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus. *J. Plant Pathol*., 88(1): 7–37.

Bové JM, 2014. Huanglongbing or yellow shoot, a disease of Gondwanan origin: will it destroy citrus worldwide? *Phytoparasitica*, 42(5): 579–583.

Cen Y, Yang C, Holford P, Beattie GAC, Spooner-Hart RN, Liang G, Deng X, 2012. Feeding behaviour of the Asiatic citrus psyllid, *Diaphorina citri*, on healthy and huanglongbing-infected citrus. *Entomol. Exp. Appl*., 143: 13–22.

George J, Ammar ED, Hall DG, Lapointe SL, 2017. Sclerenchymatous ring as a barrier to phloem feeding by Asian citrus psyllid: evidence from electrical penetration graph and visualization of stylet pathways. *PLoS ONE*, 12(3): e0173520.

George J, Ammar ED, Hall DG, Shatters RGJr, Lapointe SL, 2018. Prolonged phloem ingestion by *Diaphorina citri* nymphs compared to adults is correlated with increased acquisition of citrus greening pathogen. *Sci. Rep*., 8(1): 10352.

Gu XH, Bei YW, Gao CX, 1987. Study on feeding experiment and prevention of *Nilaparvata lugens*. *Acta Entomol. Sin*., 30(2): 169–174. [顾秀慧, 贝亚维, 高春先, 1987. 褐稻虱取食试验及防治探讨. 昆虫学报, 30(2): 169–174]

Huang JP, Huang JB, Gao W, Zeng LX, Huang YM, Song YP, Cen YJ, 2015. Studies on the relationship between feeding sites and bacterium acquisition efficiency of *Diaphorina citri* on Huanglongbing-infected citrus. *J. South China Agric. Univ*., 36(1): 71–74. [黄金萍, 黄建邦, 高娃, 曾丽霞, 黄有明, 宋银平, 岑伊静, 2015. 柑橘木虱取食黄龙病柑橘部位与获菌效率的关系. 华南农业大学学报, 36(1): 71–74]

Inoue H, Ohnishi J, Ito T, Tomimura K, Miyata S, Iwanami T, Ashihara W, 2009. Enhanced proliferation and efficient transmission of *Candidatus* Liberibacter asiaticus by adult *Diaphorina citri* after acquisition feeding in the nymphal stage. *Ann. Appl. Biol*., 155(1): 29–36.

Jiang HY, Wu FN, Wang YJ, Tao L, Wang JF, Liu Z, Cen YJ, 2018. Research advances on the origin, distribution and dispersal of the Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama). *J. Environ. Entomol*., 40(5): 1014–1020. [江宏燕, 吴丰年, 王妍晶, 陶磊, 王吉锋, 刘喆, 岑伊静, 2018. 亚洲柑橘木虱的起源、分布和扩散能力研究进展. 环境昆虫学报, 40(5): 1014–1020]

Jiang YX, Guo YY, 1994. Application of electrical penetration graph (EPG) in feeding behaviors of the piercing-sucking mouthpart insects. *Plant Prot*., 20(2): 33–35. [姜永幸, 郭予元, 1994. EPG 技术在刺吸式昆虫取食行为研究中的应用. 植物保护, 20(2): 33–35]

Kim JS, Sagaram US, Burns JK, Li JL, Wang N, 2009. Response of sweet orange (*Citrus sinensis*) to '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' infection: microscopy and microarray analyses. *Phytopathology*, 99(1): 50–57.

Kunta M, daGraca JV, Malik NSA, Louzada ES, Sétamou M, 2014. Quantitative distribution of *Candidatus* Liberibacter asiaticus in the aerial parts of the huanglongbing-infected citrus trees in Texas. *Hortic. Sci*., 49(1): 65–68.

Li W, Hartung JS, Levy L, 2006. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus* Liberibacter species associated with citrus huanglongbing. *J. Microbiol. Methods*, 66(1): 104–115.

Luo X, Yen AL, Powell KS, Wu F, Wang Y, Zeng L, Yang Y, Cen Y, 2015. Feeding behavior of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its acquisition of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus', on huanglongbing-infected *Citrus reticulata* leaves of several maturity stages. *Fla. Entomol.*, 98(1): 186 – 192.

Maffei ME, Mithöfer A, Boland W, 2007. Insects feeding on plants: rapid signals and responses preceding the induction of phytochemical release. *Phytochemistry*, 68: 2946 – 2959.

Palukaitis P, Groen SC, Carr JP, 2013. The Rumsfeld paradox: some of the things we know that we don't know about plant virus infection. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 16: 513 – 519.

Pelz-Stelinski KS, Brlansky RH, Ebert TA, Rogers ME, 2010. Transmission parameters for *Candidatus* Liberibacter asiaticus by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *J. Econ. Entomol.*, 103(5): 1531 – 1541.

Qin JD, 1987. The Relationship between Insects and Plants (On the Interaction and Evolution of Insects and Plants. Science Press, Beijing. 38 – 61. [钦俊德, 1987. 昆虫与植物的关系——论昆虫与植物的相互作用及演化. 北京: 科学出版社. 38 – 61]

Rajabaskar D, Bosque-Pérez NA, Eigenbrode SD, 2014. Preference by a virus vector for infected plants is reversed after virus acquisition. *Virus Res.*, 186: 32 – 37.

Tang QB, Zhang DS, Ji K, Ding SB, Yan FM, 2011. Some key points in applications of electrical penetration graph technique. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 48(5): 1519 – 1527. [汤清波, 张大山, 姬琨, 丁识伯, 闫凤鸣, 2011. 刺吸电位技术应用中的几个问题. 应用昆虫学报, 48(5): 1519 – 1527]

Tjallingii WF, 1978. Electronic recording of penetration behaviour by aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 24(3): 721 – 730.

Tjallingii WF, 1985. Electrical nature of recorded signals during stylet penetration by aphids. *Entomol. Exp. Appl.*, 38(2): 177 – 186.

Wang J, Bing XL, Li M, Ye GY, Liu SS, 2012. Infection of tobacco plants by a begomovirus improves nutritional assimilation by a whitefly. *Entomol. Exp. Appl.*, 144: 191 – 201.

Wu DY, 2010. Citrus Huanglongbing and Comprehensive Prevention. Guangdong Science and Technology Press, Guangzhou. 12 – 15. [吴定尧, 2010. 柑橘黄龙病及综合防治. 广州: 广东科技出版社. 12 – 15]

Wu F, Cen Y, Deng X, Chen J, Xia Y, Liang G, 2015. Movement of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) adults between huanglongbing-infected and healthy citrus. *Fla. Entomol.*, 98(2): 410 – 416.

Wu T, Luo X, Xu C, Wu F, Qureshi JA, Cen Y, 2016. Feeding behavior of *Diaphorina citri* and its transmission of '*Candidatus* Liberibacter asiaticus' to citrus. *Entomol. Exp. Appl.*, 161(2): 104 – 111.

Yang CL, Cen YJ, Liang GW, Chen HY, 2011. Study on the electrical penetration graph of *Diaphorina citri*. *J. South China Agric. Univ.*, 32(1): 49 – 52. [杨成良, 岑伊静, 梁广文, 陈华燕, 2011. 亚洲柑橘木虱的刺吸电位图谱研究. 华南农业大学学报, 32(1): 49 – 52]

Zhang HJ, Yan Y, Peng L, Guo JY, Wan FH, 2012. Plant defense responses induced by phloem-feeding insects. *Acta Entomol. Sin.*, 55(6): 736 – 748. [张海静, 严盈, 彭露, 郭建洋, 万方浩, 2012. 韧皮部取食昆虫诱导的植物防御反应. 昆虫学报, 55(6): 736 – 748]

Zhong Y, Jiang B, Yi GJ, Zeng JW, Wang H, Jiang NH, Zhou BR, 2012. Construction and analysis of subtractive cDNA library from ponkan (*Citrus reticulate*) leaves following infection with Honglongbin pathogen. *J. Fruit Sci.*, 29(3): 416 – 422. [钟云, 姜波, 易干军, 曾继吾, 王辉, 蒋侬辉, 周碧容, 2012. 黄龙病诱导下椪柑 SSH 文库的构建与分析. 果树学报, 29(3): 416 – 422]

(责任编辑: 赵利辉)